

Etablering av kvantitativ lekkasjemodell for dentale fyllingsteknikker og -materialer

Siri Brynildsen, Andreas L. Grov og Andreas Klette
Kull H-07



Masteroppgave

Det Odontologiske Fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

01.05.2012

© Siri Brynildsen, Andreas L. Grov og Andreas Klette

2012

Etablering av kvantitativ lekkasjemodell for dentale fyllingsteknikker og -materialer

Siri Brynildsen (siribry@student.odont.uio.no)

Andreas Lassen Grov (andrealg@student.odont.uio.no)

Andreas Klette (andrekl@student.odont.uio.no)

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

IV

Sammendrag

I oppgaven har vi etablert en fysisk modell for kvantitative tetthetsmålinger av dentale fyllingsmaterialer, og testet denne på utvalgte rotfyllingsmaterialer. Fokuset har vært på fremstillingen av denne modellen.

Modellen er ferdig og vi har testet den på noen grupper med rotfylte tenner. Et gjennomgående problem er stor variasjon i test-resultater av likartede prøver. Det er derfor behov for bedre standardisering av metodene for ekstirpering- og rotfylling enn hva vi kunne utarbeide med vår tilgang på egnede test-tenner. Vi ser også at det er behov for mer avanserte avlesningsmekanismer.

Vi kommer i denne oppgaven til å redegjøre for våre funn og betraktninger, som vi tror vil kunne bidra til at modellen benyttes videre i forskningsøyemed.

Forord

Vi ønsket med denne oppgaven å videreutvikle en metode som kvalitativt kan gi oss et mål på tetthetsgraden av dentale fyllingsmaterialer og –teknikker, da tette tannrestaureringer er helt avgjørende for å hindre mikroorganismers adgang til kroppen. Det fagområdet vi ønsket å fokusere på var endodonti, og da tetthetsgraden av rotfyllingsmaterialer.

I samarbeid med prof. dr. odont. Dag Ørstavik og Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer (NIOM) har vi designet og utviklet et system, som vi mener vil være en forbedret metode for slike forsøk.

Oppgaven vår beskriver hvordan og hvorfor vi designet testsystemet slik vi har gjort, og peker på nødvendige endringer før systemet kan brukes til hypotesetesting. Vi er godt fornøyd med testmodellen, og med små endringer er den klar til å brukes i i fremtidig forskning.

En stor takk rettes til tusenkunstner og instrumentmaker Erik Kleven, ved NIOM, og ikke minst til vår veileder, professor Dag Ørstavik.

Innholdsfortegnelse

1	Bakgrunn	1
2	Utvikling av metoden	3
2.1	Prinsipp	3
2.2	Tannprøvene	4
2.3	Utpøving	10
3	Resultater	11
3.1	Bakterietetthet	15
4	Diskusjon	17
4.1	Standardisert preparerings- og rotfyllingsteknikk	17
4.2	Oppbevaring av preparater i forkant av preparering/testing	19
4.3	Etterbehandling av preparatene før testing	20
4.4	Registrering og datainnsamling	21
4.5	Andre generelle feilkilder	21
5	Videre arbeid	23
5.1	Fremtidige prosjekter der metoden kan være velegnet	23
6	Konklusjoner	25
	Litteraturliste	26

Figurliste

Figur 1 er hentet fra Oruçoğlu et al. (2005)	2
Figur 2 viser skjematisk oppstilling av vårt testoppsett	3
Figur 3 Testoppsettet	4
Figur 4 Sentrering og innstøping av prøvelegemer	5
Figur 5 Sentrerings-jigg	5
Figur 6 Innstøping av prøvelegemer	6
Figur 7 Ferdig testpreparat	7
Figur 8 Ferdig ekstirpert tann - klar for rotfylling	7
Figur 9 ferdig fylt og slipt/polert prøve klar for test	8
Figur 10 Prøve på plass i systemet	9
Figur 11 Væskestrøm pr. min på Y-aksen, tid på X-aksen i minutter.....	12
Figur 12 Statistikkresultater fra SPSS	13
Figur 13 Alle resultater	14
Figur 14 viser o-ring som tetter mellom dentin og testsystem, denne er under trykk. Merk at kun området på innsiden av tettingen eksponeres for vann under trykk.....	18
Figur 15 viser et typisk ferdig testobjekt, sett fra apikalsiden. Merk luftboblene i sementen og rotkanalens utforming	19
Figur 16 viser dentin, guttaperka, sement og spalte mellom GP og sement. Tatt med makroskop.	20

1 Bakgrunn

Tette tannrestaureringer er avgjørende for å hindre mikroorganismers adgang til kroppen via restaurerte tenner. Mikroorganismene kan være årsak til karies, pulpitt, pulpanekrose, periapikale infeksjoner med mer. Tannlegens virkemidler for å forhindre dette er, foruten profylaktisk arbeid, å fjerne infisert vev og erstatte dette med et materiale som hindrer re-infeksjon og videre sykdomsprogresjon. Dersom mikroorganismene har infisert pulpavevet i en tann, er dette en indikasjon for endodontisk behandling med rotfylling. Det består i å fjerne bakterier og infisert nerve- og tannvev, og erstatte dette med et materiale som forhindrer bakteriell re-infeksjon og spredning av mikroorganismer.

Vi ønsket i samarbeid med NIOM å etablere et system som kvantitativt kunne gi oss et mål på tetthetsgraden av dentale fyllingsmaterialer og –teknikker. Metoden er en videreutvikling av en metode som i de senere år har vunnet anerkjennelse fordi den kan gi kvantitative og reproducerbare data og antas å reflektere en relevant klinisk situasjon.

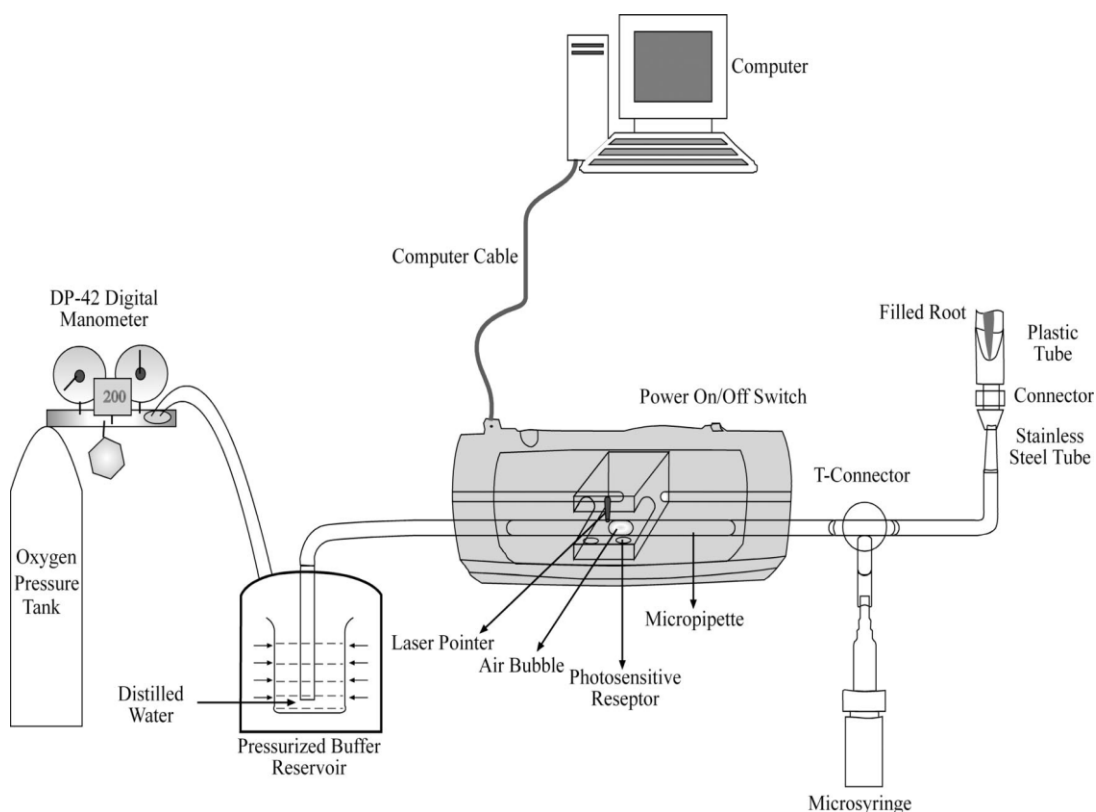
Glukosepenetrasjon (Xu et al., 2005), fargepenetrasjon (Starkey et al., 1993), radioisotop-penetrasjon (Haikel et al., 1999), bakteriell penetrasjon (Siqueira Jr et al., 2001), elektrokjemiske metoder (Jacquot et al., 1996) og elektronmikroskopiske metoder (Vujašković & Teodorović, 2010) har vært brukt for å undersøke lekkasjer mellom fyllingsmaterialer og tannsubstans. Felles for alle disse metodene er at de rotfylte tennene blir ødelagt i prosessen. De nevnte metoder har alle sine fordeler og ulemper, men få er kvantitative og ingen er enkle å reproducere (Derkson et al., 1986; Oruçoglu et al., 2005; Verissimo & Sampaio do Vale, 2006; Wu et al., 1994; Wu et al., 1993; Wu & Wesselink, 1993).

Modellen vi har valgt å benytte som utgangspunkt er ”Fluid Filtration Method” som først ble beskrevet av Derkson et al. (1986), og som senere er modifisert med blant annet mer moderne avlesningsteknikker, ”Computerized Fluid Filtration Method” (Oruçoglu et al., 2005). Systemet kan brukes til å teste tettheten til både topp- og rotfyllinger (Derkson et al., 1986; Oruçoglu et al., 2005); tannen ødelegges ikke ved analysering; og forsøket kan gjøres på nytt ved behov. Metoden er rask og lite ressurskrevende i forhold til alternativene, og kan sammenliknes med andre metoder, som for eksempel glukose-penetrasjon (Souza et al., 2008). Da metoden er relativt rask, kan flere enheter testes raskere, og det kan oppnås høyere

statistisk nøyaktighet. Vårt hovedfokus var å utvikle metoden ved å tilføre ytterligere standardiserte parametere i forbindelse med testingen, noe som også ble påpekt som nødvendig av Pommel og Camps (2001) i deres arbeid.

Typiske eksempler på anvendelsesområder for denne typen kvantitative tester kan være å undersøke betydningen av smearlaget for tettheten av rotfyllinger (Çobankara et al., 2004), betydningen av bruk av ulike dentin-bondinger, betydningen av ulike herdeteknikker av sealeren (Nagas et al., 2008) og betydningen av av ulike sementeringsmaterialer (da Silva Neto et al., 2007; Santos et al., 2010).

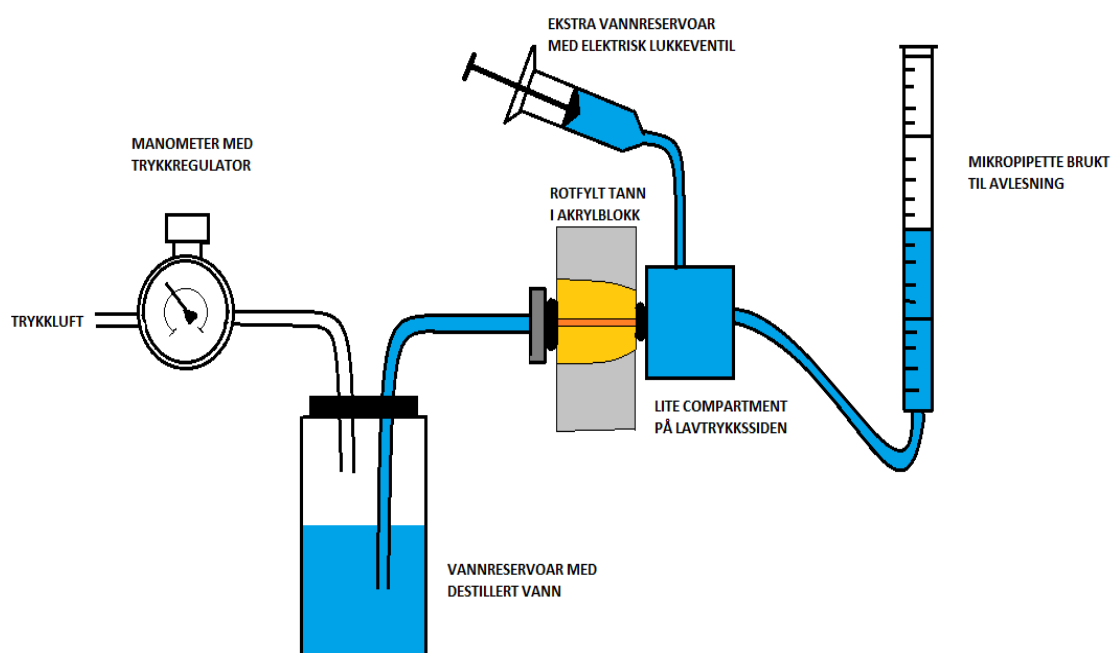
Testsystemet vi benyttet som utgangspunkt for vårt arbeid er beskrevet av Oruçoğlu et al. (2005):



Figur 1 er hentet fra Oruçoğlu et al. (2005)

2 Utvikling av metoden

2.1 Prinsipp



Figur 2 viser skjematisk oppstilling av vårt testoppsett

Trykkluft ledes via en plastslange til en trykkregulator, som kan regulere trykket videre. I testingen har vi valgt å benytte enheten bar. Trykket ledes videre i en ny slange til et vannreservoar med destillert vann. Her overføres trykket fra luft til vann. Vannet i denne beholderen presses med enda en ny slange inn til den koronale delen av en rotfylt tann. Her er rotfyllingen adskilt utenfra vha. tette o-ringer (gummiring) i hver ende av tannen, slik det også ble gjort i forsøkene til Camps et al. (1997). Dette sikres ved at tannen fastspennes i en stålramme. Det konstante trykket vil bevege vann gjennom porer i rotfyllingen, ut i et nytt reservoar og gjennom siste slange som leder til et målebeger. Her vil man kunne lese av det volum vann som har blitt presset gjennom hele systemet over en tidsperiode. Dette skjer i svært liten målestokk, typisk få mikroliter per minutt.

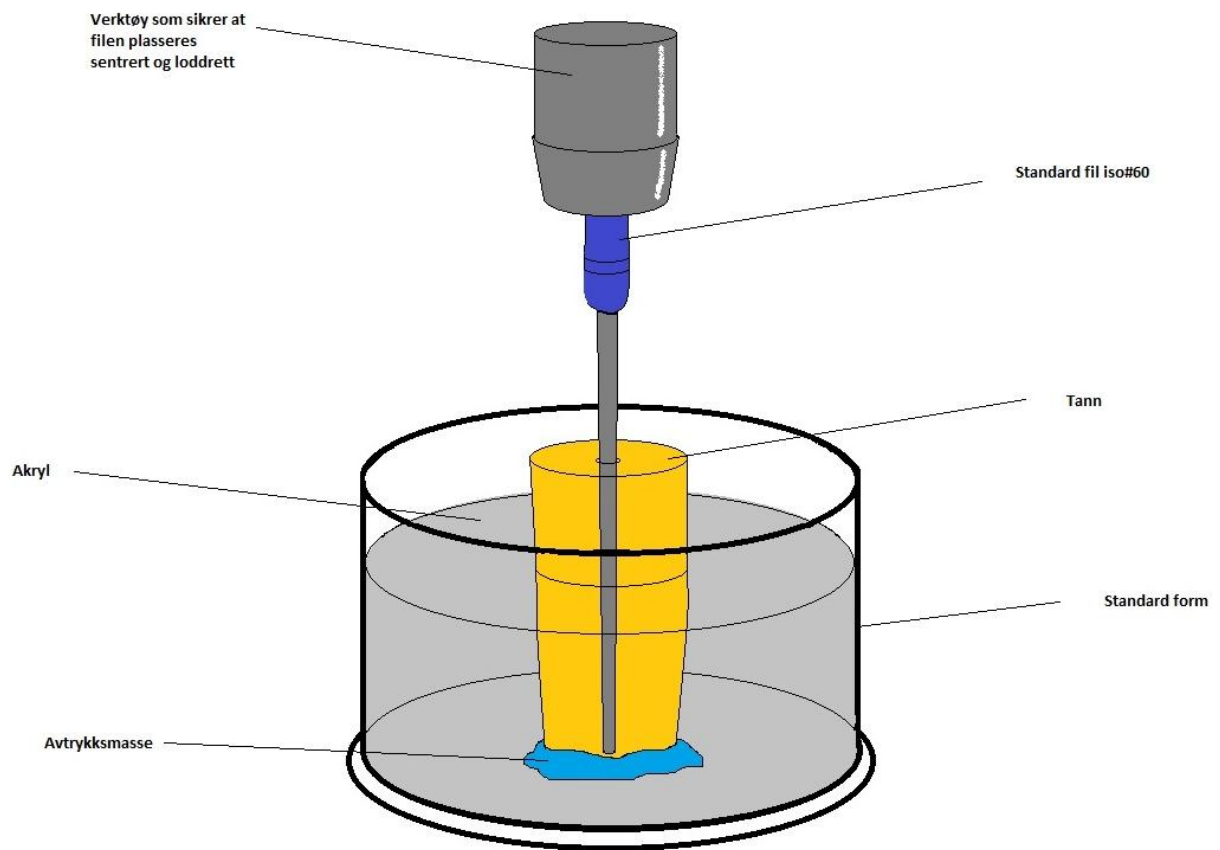


Figur 3 Testoppsettet

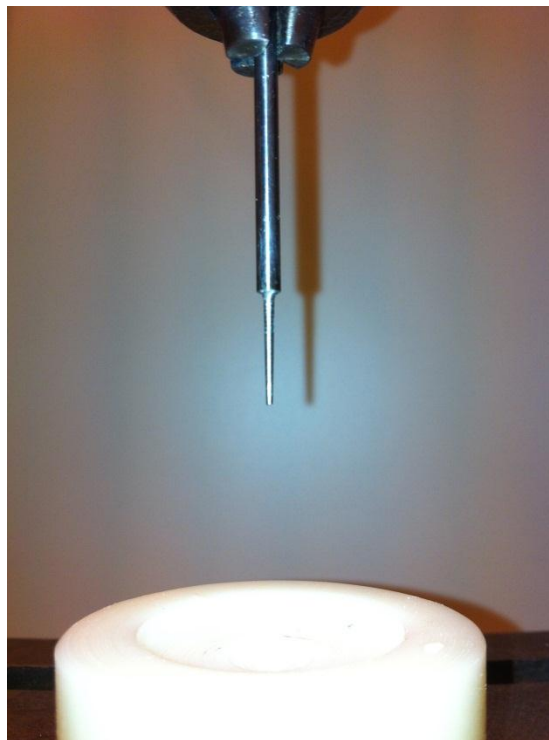
2.2 Tannprøvene

De enrotede tennene ble kuttet horisontalt ved emalje-sement-grensen og noen millimeter fra apeks for å unngå det apikale delta. Rotkanalene ble instrumentert med stålfiler til størrelse ISO#100 og til 14 mm lengde. Vi ønsket å utvide nok til å fjerne eventuelle deviasjoner i rotkanalene, fordi vi ikke ville utføre lateral eller vertikal kondensering av fyllingsmaterialet av hensyn til standardiseringen. Det ble heller ikke laget en apikal boks av samme årsak. Det ble imidlertid raskt klart at utrensingen til så stor dimensjon ga oss tidvis lite rest-dentin som ville danne grunnlaget for den senere tilslutningen til testoppsettet via o-ringer, som blir beskrevet senere.

Deretter ble prøvene plassert loddrett og sentrert ved hjelp av en standard ISO#60 fil i standardiserte støpeformer, festet med avtrykksmasse, og videre ble formene fylt med kaldakryl, og prøvene ble dermed støpt inn i en standard prøveblokk.



Figur 4 Sentrering og innstøping av prøvelegemer

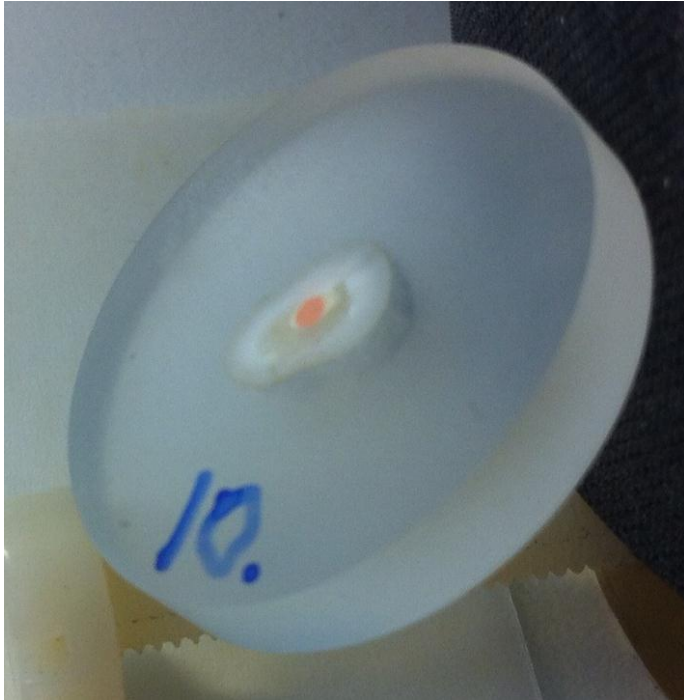


Figur 5 Sentrerings-jigg

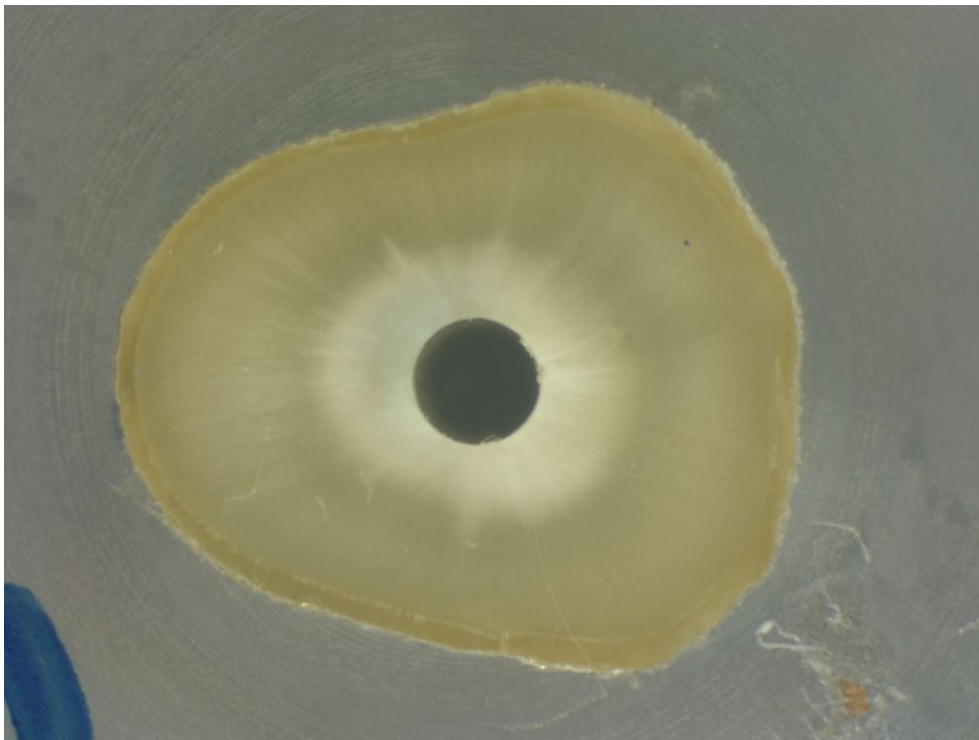


Figur 6 Innstøping av prøvelegemer

Etter herding av kaldakrylen ble avtrykksmaterialet fjernet, rotkanalene ble rensset ut ferdig til ISO#100, 14 millimeter fra den koronale enden, og akrylblokkene ble mekanisk dreiet inn til diameter tilsvarende den i utfresingen i stålrammen. Dette ble gjort for å sikre at både koronal og apikal ende av prøven står i sentrum av testoppsettet, og at det dermed tettes mot dentin slik at vi vet at det vannet som passerer prøven kommer via rotkanalen, se figur 14. Dette var et betydelig merarbeid som kom som et resultat av at sentreringen i akrylblokkene ikke var nøyaktig nok. Dette kan løses ved å lage en egen modell for denne prosessen, der tannprøvene er ferdig instrumenterte, og dermed har en fast definert kanal det kan sentreres utfra.

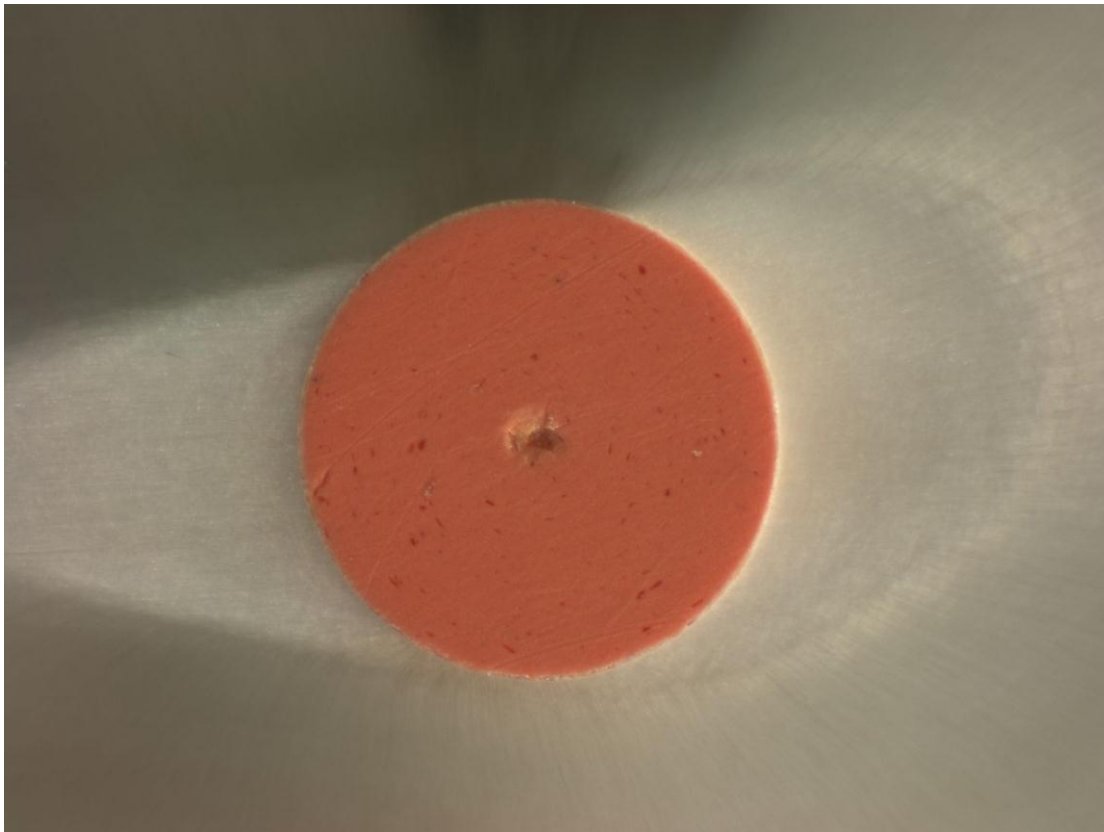


Figur 7 Ferdig testpreparat



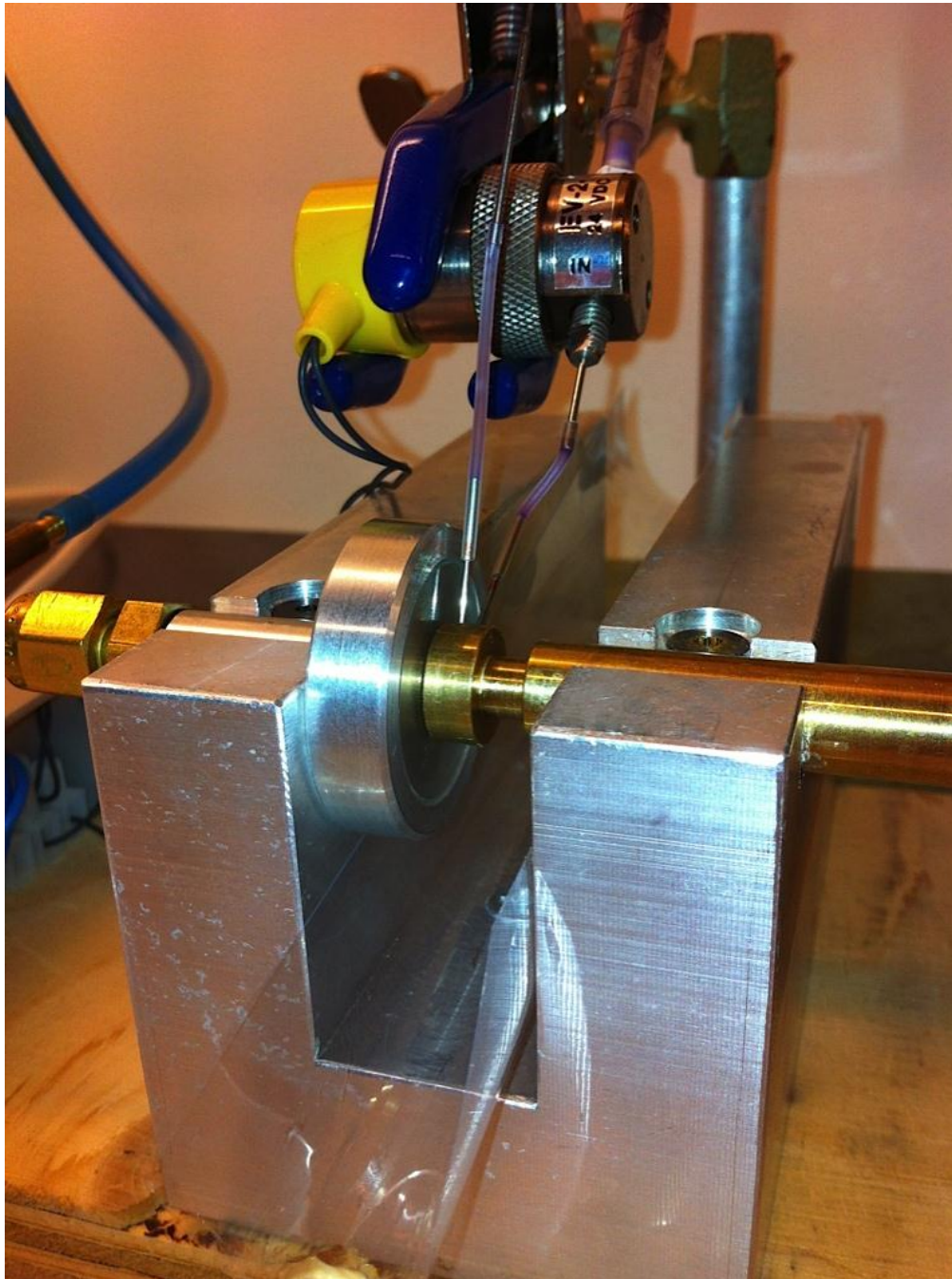
Figur 8 Feridg ekstirpert tann - klar for rotfylling

Kanalene ble fylt med sealer AH+ og guttaperka med et fast, lett fingertrykk (ca 100 g trykk), og oppbevart i inkubator ved 37 grader C og tilnærmet 100 % luftfuktighet i 7 døgn for herding før videre testing. Samme operatør utførte siste del av utrensing av alle prøvene fra ISO#60 til ISO#100, og tilsvarende for rotfyllingen, slik at det skulle bli så likt utført som mulig. Rotfyllingen ble utført etter sealer-produsentens anvisninger. Overskudds-guttaperka og AH+ ble skåret bort med skalpell, men vi forsøkte her flere metoder for å finne det mest hensiktsmessige. Dette diskuteres videre i avsnittet om feilkilder. Blokkene ble så slipt inn til en tykkelse på ca 5 mm fra det apikale, og deretter ble prøvenes lengde målt nøyaktig. Vi kan derfor beregne, i hvert fall teoretisk, det totale innvendige areal som dekkes med sement, og justere for dette da prøvene varierte noe i lengde etter siste slip og polering før testing.



Figur 9 ferdig fylt og slipt/polert prøve klar for test

Prøvene ble plassert inn i stålrammen med de nevnte o-ringene som tettet systemet på hver side av tennene. En strammeskruer sikret at vann ikke lekket ut rundt prøvene, og dette kunne kontrolleres underveis i forsøket ved å benytte diffusjonspapir. Vi hadde ingen lekkasjer underveis i testingen.



Figur 10 Prøve på plass i systemet

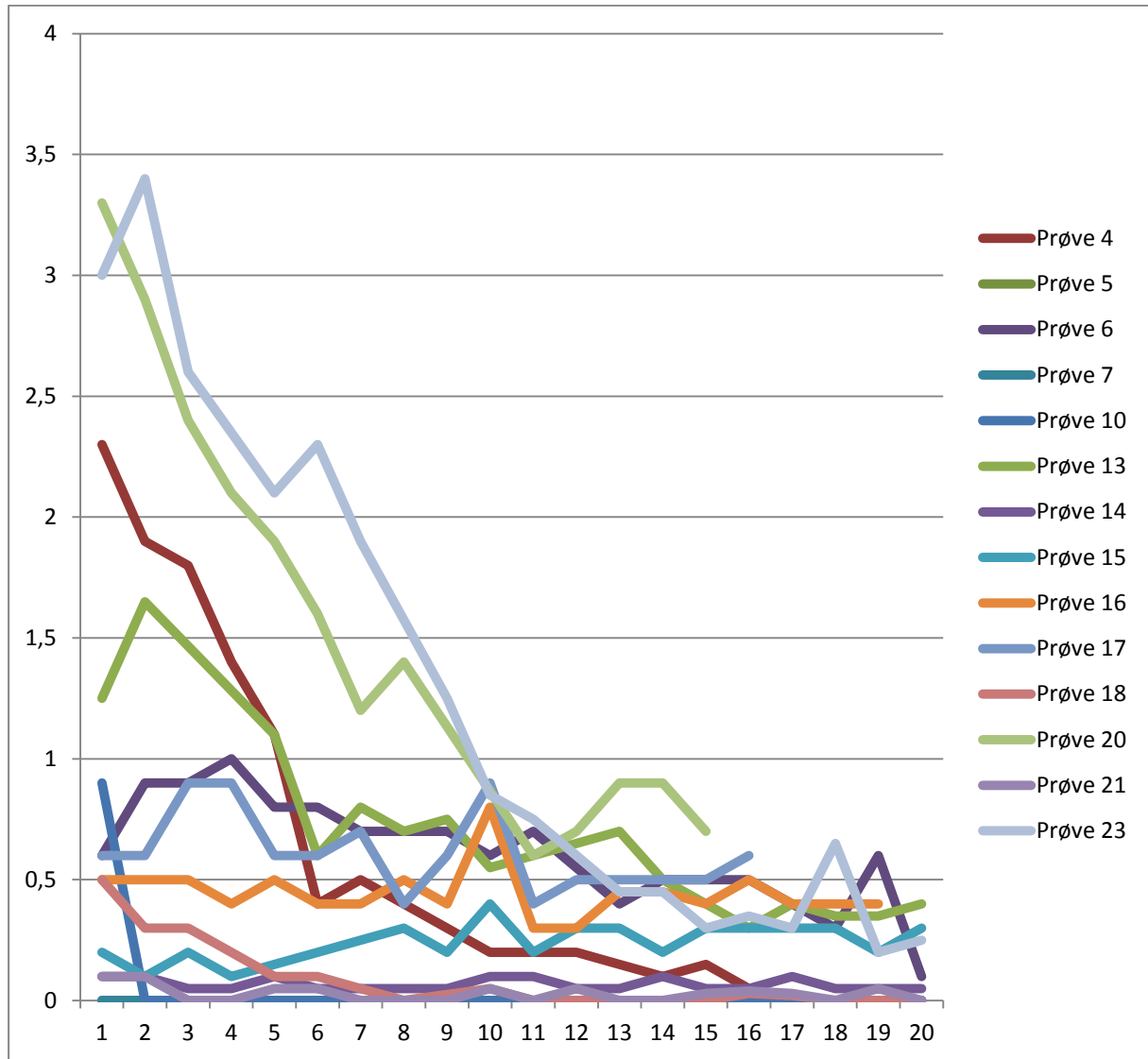
For å fjerne luftbobler som oppstod ved innsetting av hver nye tannprøve, var en ekstra slange koblet til reservoaret like utenfor o-ringene på lavtrykksiden av systemet. Her åpnet man en elektrisk ventil og sprøytet inn vann fra et ekstra reservoar slik at luften forsvant opp og ut toppen av målerøret. Deretter trakk man vannet tilbake i reservoaret slik at vannstanden var på nullnivået i mikropipetten, før ventilen igjen ble lukket.

2.3 Utprøving

Med tilnærmet konstant trykk på 2 bar målte vi gjennomstrømning av vann hvert minutt til det 20. minuttet. Disse avlesningene kunne da settes sammen til en graf for hver enkelt prøve. Det var i denne prosessen vi møtte de største utfordringene, da volumene som passerer er små, og endringene er vanskelige å observere ved hvert minutt-intervall.

3 Resultater

Av 20 testede tenner fikk vi 14 sammenliknbare resultater som ikke måtte forkastes av ulike grunner. Den mest vanlige årsaken til at prøven ble forkastet var at det var åpenbart for stor lekkasje, noe vi tilskriver menneskelig svikt i instrumenterings- eller rotfyllingsprosessen. Det ble gjort målinger av det lekkede væskevolum ved hvert minutt i 20 minutter, omregnet til differanse per minutt og videre beregnet gjennomsnittlig væskegjennomstrømning over et 5 minutters intervall fra det 11. til det 16. minuttet. Årsaken til at nettopp dette intervallet ble valgt som referanse var store variasjoner i målingene de første minuttene, før det stabiliserer seg. Dette fremkommer av figur 11. Ved noen intervaller mangler vi resultater, og disse er utelatt fra beregningene av snittverdiene. Gjennomsnittsverdien av alle våre målinger i referanseintervallet ble beregnet til 0,26 mikroliter/min, med et standardavvik på 0,26 mikroliter/min. Mulige årsaker til det høye standardavviket diskuteres i avsnittet om feilkilder. De prøvene som viste en væskestrøm på mer enn 1 mikroliter per minutt i testperioden ble ikke tatt med i beregningene vi viser til i det følgende. Se figur 11 og 12 for detaljer.



Figur 11 Væskestrøm pr. min på Y-aksen, tid på X-aksen i minutter

Under er beregningene utført ved bruk av SPSS, ver. 16.1. basert på de ikke-forkastede middelerverdiene. Se for øvrig figur 13 for grunnlagstall.

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Testgruppe1	14	,2586	,26113	,06979

One-Sample Test Ci=95%

	Test Value = 0					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
Testgruppe1	3,705	13	,003	,25857	,1078	,4093

Figur 12 Statistikkresultater fra SPSS

Flow pr. minutt																					
Prøve	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Snitt 11.-16.min
2	8,8	7,4	7,2	6,5	5,8	5,2	5,2	4,9	4,3	3,8	3,6	6,8	3,7	3,8	3,6	3,3				4,24	
4	2,3	1,9	1,8	1,4	1,1	0,4	0,5	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,15	0,1	0,15	0,05				0,13	
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6	0,6	0,9	0,9	1	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,6	0,7	0	0,4	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3	0,6	0,1	
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	15,43					12,56							8,3							8,3	
10	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
11	6,8		5,4	7,5		5,5	4,3	4,4	3,8	2,9	2,9	2,1	2,2	1,8	1,5	1,1	1,2	0,8	0,7	0,8	
13	1,25	1,65			1,1	0,6	0,8	0,7	0,75	0,55		0,7	0,5	0,4	0,3	0,4	0,35	0,35	0,35	0,4	
14	0,1	0,1	0,05	0,05	0,1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,1	0,1	0,05	0,05	0,1	0,05	0,05	0,1	0,05	0,05	0,05	
15	0,2	0,1	0,2	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,2	0,4	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	
16	0,5	0,5	0,5	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5	0,4	0,8	0,3	0,3	0,45	0,45	0,4	0,5	0,4	0,4			
17	0,6	0,6	0,9	0,9	0,6	0,6	0,7	0,4	0,6	0,9	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6					
18	0,5	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,05	0		0,05	0	0	0	0	0	0,03	0,02	0	0	0	
20	3,3	2,9	2,4	2,1	1,9	1,6	1,2	1,4			0,6	0,7	0,9	0,9	0,7						
21	0,1	0,1	0	0	0,05	0,05	0	0	0	0,05	0	0,05	0	0	0,03	0,04	0,03	0	0,05	0	
22A	0					11,5							6,5							6,5	
22B	21,6					9,8							5,8							5,8	
23	3	3,4	2,6		2,1	2,3	1,9		1,25	0,85	0,75	0,6	0,45	0,45	0,3	0,35	0,3	0,65	0,2	0,25	
																				0,43	

Figur 13 Alle resultater

3.1 Bakterietetthet

En grunntanke som ble fremsatt av Wu et al. (1993) var at en kan sammenholde prinsippet om væsketransport gjennom en rotbehandlet tann med en teoretisk mulighet for at bakterier kan passere det samme mediet ved å benytte Hagen–Poiseuille-teoremet. Vi kan med denne grunntanken se for oss at dersom det er «kanaler» langs rotfyllingen som vannet kan strømme gjennom, og disse kanalene er store nok, kan ikke bare vann, men også bakterier passere gjennom disse kanalene. Disse kanalenes størrelse kan beregnes utifra Hagen–Poiseuille-teoremet.

Dette teoremet beskriver forholdet mellom trykkfall og væskegjennomstrømming gjennom et sylindrisk rør, og man kan beregne en gitt forventet veskestrøm som vil passere gjennom et gitt rør over et gitt trykkfall. Hvis en da antar at en typisk bakterie sett ved endodontiske infeksjoner er ca 2 mikrometer i diameter, vil en da kunne beregne den forventede veskestrømmen i et rør med samme diameter med den følgende likning:

$$\Delta P = \frac{8\mu LQ}{\pi r^4} \text{ kan utledes til } Q = \frac{\Delta P \pi r^4}{8\mu L} \text{ eller } d = \sqrt[4]{\frac{128\mu LQ}{\Delta P \pi}}$$

Symbol	Forklaring	Våre verdier
ΔP	er trykkfall gjennom røret i Pa	$2 \times 10^5 Pa$
μ	er den dynamiske viskositeten til sterilt vann i $Pa \cdot s$	$10^{-3} Pa \cdot s$
L	er rørets lengde i meter	$5 \times 10^{-3} M$
Q	er den volumetriske væskestrømmen i $M^3/sekund$	
π	er den fysiske konstanten Pi	
r	er rørets radius	$10^{-6} M$
d	er rørets diameter	$2 \times 10^{-6} M$

Dette gir oss at væskestrømmen

$$Q = \frac{2 \times 10^5 \pi (10^{-6})^4}{8 \times 10^{-3} \times 5 \times 10^{-3}} = 1,5708 \times 10^{-14} M^3/sek = 0,00094 \mu L/min$$

er den tenkte væskegjennomstrømning som må til for å kunne anta at en bakterie kan passere rotfyllingen under de gitte betingelsene. Vi fikk i våre målinger et gjennomsnitt på 0,26 mikroliter/minutt. Derfor kan vi ikke forkaste muligheten for at bakterier kan penetrere rotfyllingen. Vi kan likevel ikke konstatere at bakterier *kan* passere, da vi antar at denne tankegangen kun har negativ prediktiv verdi. Det er også verdt å merke seg at det er mer trolig at det finnes porer, utettheter og ujevne tilslutninger mellom sement og hhv. guttaperka og rottdentin, og ingen kontinuerlig, langsgående kanal gjennom hele tannen. Vi stiller derfor spørsmål ved hvorvidt dette er av stor verdi for bruken av denne typen tester. Vi kan allikevel beregne en teoretisk rørdiameter for den gjennomsnittlige væskegjennomstrømningen vi fant:

$$d = \sqrt[4]{\frac{128 \mu L Q}{\Delta P \pi}} = \sqrt[4]{\frac{128 \times 10^{-3} \times 5 \times 10^{-3} \times 0,26 \times 10^9}{2 \times 10^5 \times \pi}} = 12,8 \mu M \text{ diameter}$$

Vi kan derfor ikke utelukke at mikrober/partikler med diameter mindre enn 12,8 mikrometer kan passere de rotfylte tenne vi har testet, basert på denne tilnærmingen.

4 Diskusjon

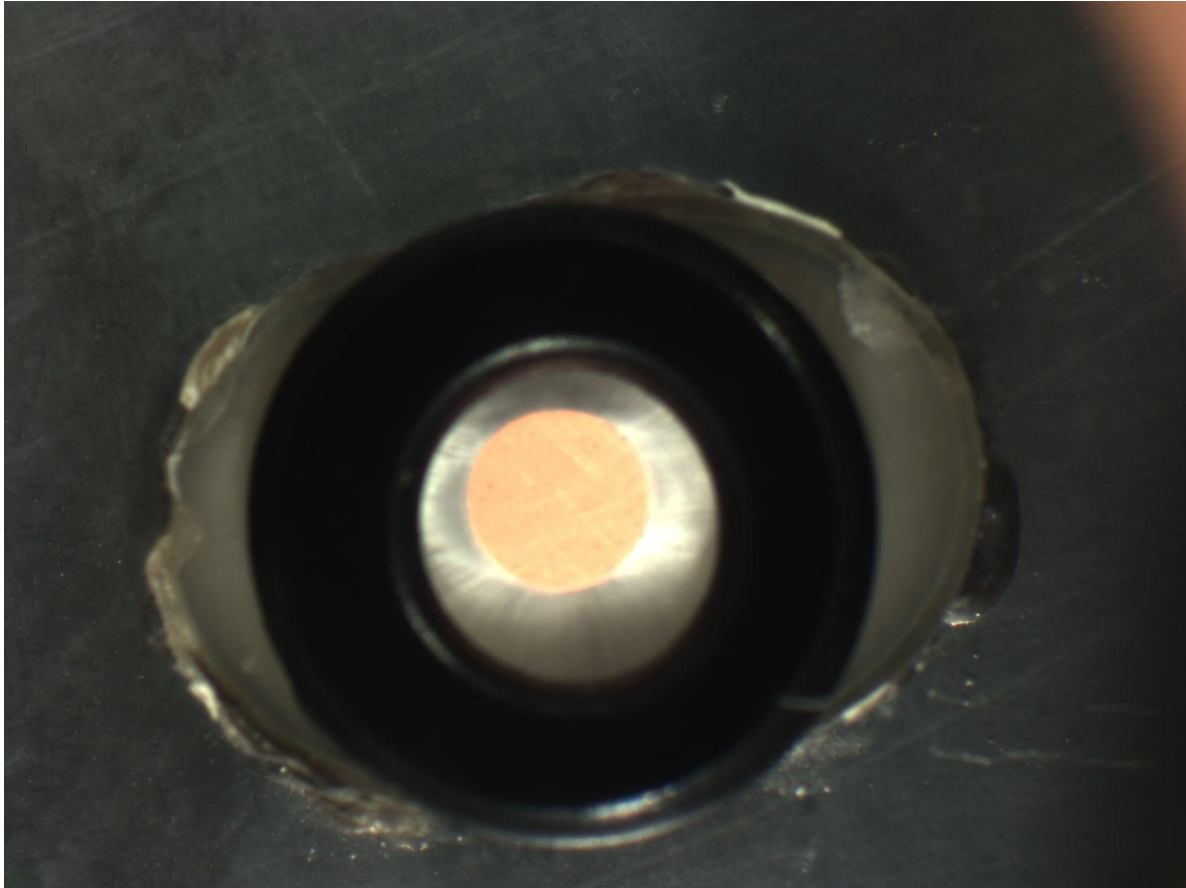
Fluid filtration technique er den mest anerkjente metoden for kvantitativ måling av rotfyllingstetthet. Denne var derfor utgangspunktet når vi skulle utvikle vår modell. Våre gjennomstrømningsverdier var mindre enn hva som ble funnet av Oruçoğlu et al. (2005), 0,26 mikroliter/min mot deres 0,43 mikroliter/min.

Som Pommel og Camps (2001) nevner, hadde Fluid Filtration-metoden behov for øket standardisering i forhold til tid brukt til hvert testobjekt, og hvor stort vanntrykk prøven utsettes for. I våre forsøk har vi holdt trykket tilnærmet konstant på 2 bar, og hvert objekt blitt målt vanngjennomstrømning i 20 minutter.

O-ringene vi brukte for å sikre tett tilslutning mot dentinet er tidligere utprøvd av Camps et al. (1997), hvor dentinets permeabilitet ble forsøkt testet. I dette forsøket skapte o-ringene et konstant areal hvor vannet kunne penetrere dentinkanalene. Vi eliminerer i vårt forsøk dermed falske positive testobjekter som kan oppstå gjennom lekkasjer, når vi vet at alt vannet beveger seg gjennom selve rotkanalen og ikke rundt tannen.

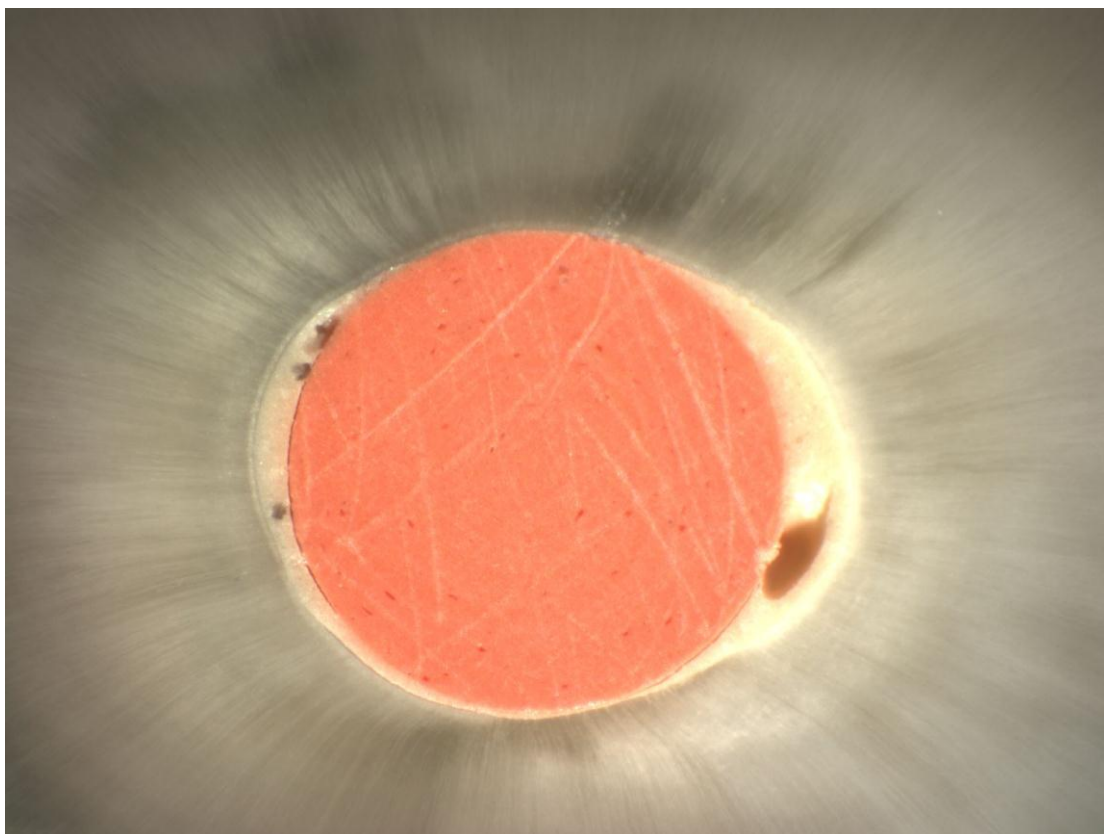
4.1 Standardisert preparerings- og rotfyllingsteknikk

For å kunne oppnå sammenliknbare resultater må det utarbeides en standardisert teknikk for fremstilling av testobjektene. Prepareringsteknikken er nokså uproblematisk, men fyllingsprosessen kan fremstå som utfordrende. Lateral kondenseringsteknikk ble vurdert som kilde til variabilitet, og ble derfor ikke utført. Man kan anta at dersom rotkanalen er preparert til en ISO-størrelse som utelater dens anatomiske utforming som variabel, vil dette utgjøre en mindre feilkilde enn lateral kondensering vil utgjøre. Det problematiske i dette er at vår metode krever et stort nok dentinareal i både koronal og apikal ende av tannen for å kunne sikre god tetting mot testapparatet. Dermed begrenses tilgangen til egnede tenner vesentlig i og med at utrensingsstørrelsen økes.



Figur 14 viser o-ring som tetter mellom dentin og testsystem, denne er under trykk. Merk at kun området på innsiden av tettingen eksponeres for vann under trykk.

Et annet aspekt i forhold til rotfyllingsteknikk er med hvilket trykk guttaperkapoint (eller annet) plasseres i rotkanalen. Det ble klart at dersom pointen presses inn med stort trykk tillates ingen væskepassasje. En må her huske at det ikke er preparert med ”apikal boks”. Alle guttaperkapoints har også ulike størrelser innad i en størrelsesklasse på grunn av produksjonsteknikk, noe som medfører små variasjoner i sementtykkelse i vanlig klinisk applisering. Betydningen av fyllingsteknikken kan imidlertid studeres i fremtidige forsøk, der alle tekniske detaljer forøvrig er standardisert.



Figur 15 viser et typisk ferdig testobjekt, sett fra apikalsiden. Merk luftboblene i sementen og rotkanalens utforming

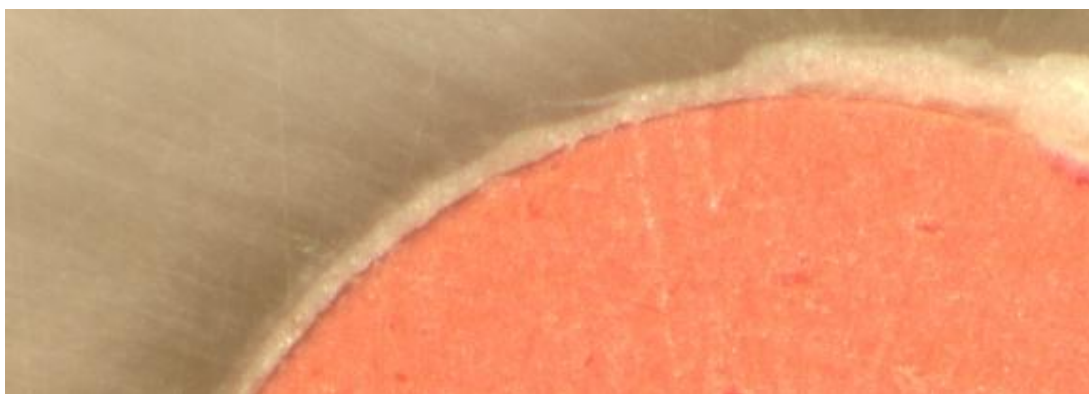
4.2 Oppbevaring av preparater i forkant av preparering/testing

Da det har vært utfordrende å få tak i egnede preparater har vi ikke kunnet stille store krav til preparatenes transport- og oppbevaringsmedium i tiden mellom ekstraksjon og overlevering til oss. Det er i litteraturen beskrevet ulike medier benyttet til dette formålet, men det synes klart at det er mest hensiktsmessig å benytte destillert vann. Dette er også metoden som benyttes ved NIOM i tilsvarende situasjoner. Alkoholøsninger, NaOCl, formalin og andre kjemisk aktive væsker vil kunne gi endringer i både dentinets egenskaper og sementenes evne til å binde til denne. Metoder for å fjerne rester av slike oppbevaringsmedier gir heller ikke forutsigbarhet.

4.3 Etterbehandling av preparatene før testing

Etter rotfylling sitter vi igjen med overskudd av både guttaperka og sement som må fjernes. Vi forsøkte innledningsvis å brenne av guttaperka tilsvarende klinisk praksis (før herding av sementen), men dette medførte ofte drag i sementspalten som kunne observeres i mikroskop ved testing. Dette løses klinisk ved at man kondenserer vertikalt, noe vi ikke kunne gjøre for å opprettholde et likt indre rotfylt areal på alle prøvene. Fremgangsmåten ble derfor endret til at vi slipte bort overskudd etter herding, og deretter polerte dentinflaten som gummipakningene skulle tette imot. Dette kan ha medført at slipeprodukter (debris) har ligget igjen på dentinflaten og i sementen, som igjen har bidratt til tetting. Slippingen har også medført at lengden på de rotfylte prøvene ble noe endret, og dermed også det indre arealet. Ved målinger kan dette registreres, og justeres for. For øvrig ble også flere lengder forsøkt, og lengder på omkring 5 millimeter ble funnet best egnet av praktiske hensyn.

Et større problem er dannelser av spalter mellom guttaperka og sement som vi observerte underveis idet samtlige prøver ble stereomakroskopisk studert og fotografert. En årsak til dette kan være etterbehandlingen av prøvene, enten ved kutting, slip eller polering – eller en kombinasjon av disse. Det er grunn til å anta at dette er en av årsakene til de devierende resultatene, men det var ikke en direkte sammenheng mellom væskegjennomstrømning og visuelt observerbar størrelse på spaltene.



Figur 16 viser dentin, guttaperka, sement og spalte mellom GP og sement. Tatt med makroskop.

4.4 Registrering og datainnsamling

Vi kunne etter endt forsøk dele prøvelegemene inn i tre grupper: en gruppe hvor det var stor væskegjennomstrømning, en gruppe hvor det overhodet ikke gikk væske igjennom (ikke registrerbar), og en tredje gruppe hvor det var stabil væskegjennomstrømning. De registreringer som ble gjort var veldig små, og det skulle svært lite til for at vi fikk tilfeldige avvik i disse målingene. Her kan nevnes fordamping (som det ble tatt høyde for ved at vi utførte forsøkene i klimalab med konstant temperatur og luftfuktighet), vibrasjoner og variasjon i atmosfærisk trykk. Med vårt utstyr for registrering av verdier kunne vi avlese volumer på 1/10 microliter, men da dette leses av manuelt i en pipette, viste det seg å være vanskelig å få gode avlesninger. Det ble forsøkt å tilsette fargestoffer i vannet på lavtrykkssiden i vårt system for å øke avlesningsnøyaktigheten, uten at dette bidro i vesentlig grad. Andre har brukt ulike former for automatiske avlesningsteknikker, noe som etter vårt syn vil øke måle metodens nøyaktighet vesentlig.

4.5 Andre generelle feilkilder

Det kan generelt ikke garanteres at vannet har passert gjennom sementspalten. Det er vel kjent at det kan passere vann gjennom dentintubuli, og dette er testet i liknende forsøk som vårt eget (Camps et al., 1997). Det er dog verdt å merke seg at vi i forsøk som dette presser vann gjennom dentinsubstans perpendikulært på dentinkanalenens antatte retning. Vi utførte 5 kontroll-tester som viste at det ikke passerer vann gjennom rent dentin eller gjennom tilslutningen mellom akryl og tann, både på prøver som hadde vært fullstendig tette og på prøver som hadde tillatt vannpassasje i tidligere forsøk. Man kan derfor anta at det vannet som passerte har passert via sementspalten da vanntrykk kun utøves på dette området, og at vanngjennomgang som avleses kun samles opp fra dette området på apikalsiden. Det var også mulig å identifisere eventuelle lekkasjer, altså vann som unnslopp oppsamling i lavtrykkssystemet, uten at dette har vært et problem.

En annen feilkilde er variasjoner i det utøvede trykket. Vi hentet lufttrykk fra lokalets felles lufttrykkssystem, som kunne gi små uregelmessigheter som følge av store luftuttak andre steder i bygget. Vår trykkregulator må kunne antas å ha noe treghet i justeringen for dette. Her finnes det flere løsninger som kan redusere denne feilkilden, slik som mer avansert regulering

og å bruke lokale trykkilder som gassflasker. Dette ble ikke brukt på grunn av kostnadshensyn.

5 Videre arbeid

Da vi først gikk i gang med denne masteroppgaven hadde vi tre kliniske hypoteser som utgangspunkt for vårt engasjement, men møtte raskt på en del utfordringer. Vi hadde blant annet problemer med å få tak i nok egnede tenner, og det tok av ulike grunner lengre tid enn beregnet å få testsystemet operativt. Dette gjorde at vi i ikke har fått belyst våre hypoteser.

Vi startet opp med 62 tenner som oppfylte våre grunnleggende krav om at de skulle være enrotede og av en viss størrelse. Dette tilsvarte nok tenner til å kunne utføre test av de forespeilede hypoteser og med utvalgsstørrelser beregnet utfra resultater ved tidligere sammenliknbare forsøk. Ved en mer kritisk gjennomgang av tennene i forbindelse med testing, ble det klart at mange av disse tennene ikke var egnet, hovedsakelig på grunn av rotkanalanatomi, dentinets beskaffenhet og koronal/apikal rottykkelse. Det videre arbeid forutsetter derfor flere prøvetenner av adekvat kvalitet. Dette vil begrense standardavviket og gi grunnlag for beregning av utvalgsstørrelse for hypotesetestingen. Testoppsettet forøvrig er operativt slik det står i dag, og kan benyttes videre.

5.1 Fremtidige prosjekter der metoden kan være velegnet

Det er i dag generelt akseptert at mekanisk utrensing av kanaler under irrigasjon av antiseptiske midler som eksempelvis NaOCl gir best desinfiserende effekt (Eliyas et al., 2010). Smear-laget som dekker de gjenstående innvendige tannflater etter mekanisk utrensing er en blanding av dentin-, pulpa- og bakterierester oppstått som følge av instrumenteringsprosessen. Det er en løpende diskusjon om hvorvidt fjerning av dette laget faktisk har noe å si for tettheten av rotfyllinger (Shahravan et al., 2007).

Det er hevdet at mikrolekkasjer oppstår i mindre grad når smearlaget på innsiden av kanalene fjernes før fylling (Jhamb et al., 2009), men det motsatte er også funnet (Fróes et al., 2000; Yildirim et al., 2008). En metaanalyse utført i 2007 kommenterte at det er vanskelig å sammenlikne ulike forsøk på grunnlag av ulike metodevalg, men resultatet viste at 54% av forsøkene var inkonklusive, 40% tilsa at smearlaget burde fjernes, mens 5 % av forsøkene fant at smearlaget burde beholdes (Shahravan et al., 2007). Noen typiske hypoteser som derfor kan tenkes å testes med denne metoden er derfor:

1. Et smearlag på overflaten av rotentin ved rotfylling med guttaperka og AH+ (epoxysealer) reduserer lekkasje langs rotfyllinger.
2. Rotfyllinger med Epiphany (komposittsealer) og Resilon uten smearlag lekker *mer* enn rotfyllinger med AH+/guttaperka med eller uten smearlag (valget bestemmes utfra resultatene etter testing av hypotese 1, der det best forsegkende alternativet skal benyttes).
3. En 2 mm plugg/propp av forsegkende ZnO-eugenol-sement (IRM) koronalt i rotkanalen reduserer lekkasje i rotfyllinger lagt med AH+/GP (+/-smearlag) alternativt Epiphany/Resilon (valget bestemmes av resultatene av testing av hypotese nr. 2, der det best forsegkende alternativet skal testes).

6 Konklusjoner

Væskegjennomstrømningsprinsippet for kvantitativ sammenlikning og testing av rotfyllingsmaterialer er en etablert og tidligere brukt metode for å sammenlikne ulike rotfyllingsteknikker og –materialer. Vi har lagt vekt på å etablere et testoppsett med spesielt fokus på ytterligere standardisering, og ikke minst verifisering av metoden, samt å skaffe erfaring i denne typen arbeid. Det knyttes til dette oppsettet spesielle utfordringer i forhold til arbeidsteknikk i forbindelse med forbehandlingen av testobjektene, og ikke minst avlesning.

Modellen vi utviklet er klar til bruk som den står, men den kan med fordel forfines ytterligere gjennom bedre standardisering av prøvelegemene og automatiserte avlesningsmetoder. Selv om våre foreløpige resultater derfor ikke er entydige, kan de allikevel sammenliknes med tidligere resultater fra tilsvarende forsøk. Vi har funnet litt lavere væskegjennomstrømningshastigheter enn de fleste andre liknende studier. For eksempel kom Oruçoğlu et al. (2005) frem til en gjennomsnittlig væskegjennomstrømningshastighet på 0,43 microliter/min, mot vårt resultat på 0,26 microliter/min. Den store forskjellen ligger her ikke i disse tallene, men heller i standardavvikene, som i det nevnte arbeidet var på 0,16 microliter/min mot våre resultater som ga 0,26 microliter/min.

Litteraturliste

- Camps, J., Giustiniani, S., Dejou, J., & Franquin, J. C. (1997). Low versus high pressure for in vitro determination of hydraulic conductance of human dentine. *Archives of Oral Biology*, 42(4), 293-298. doi: 10.1016/s0003-9969(97)00013-7
- Çobankara, F. K., Adanır, N., & Belli, S. (2004). Evaluation of the Influence of Smear Layer on the Apical and Coronal Sealing Ability of Two Sealers. *Journal of Endodontics*, 30(6), 406-409. doi: 10.1097/00004770-200406000-00007
- da Silva Neto, U. X., de Moraes, I. G., Westphalen, V. P. D., Menezes, R., Carneiro, E., & Fariniuk, L. F. (2007). Leakage of 4 resin-based root-canal sealers used with a single-cone technique. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 104(2), e53-e57. doi: 10.1016/j.tripleo.2007.02.007
- Derkson, G. D., Pashley, D. H., & Derkson, M. E. (1986). Microleakage measurement of selected restorative materials: A new in vitro method. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 56(4), 435-440. doi: 10.1016/0022-3913(86)90384-7
- Eliyas, S., Briggs, P. F., & Porter, R. W. (2010). Antimicrobial irrigants in endodontic therapy: 1. Root canal disinfection. *Dent Update*, 37(6), 390-392, 395-397.
- Fróes, J. A. V., Horta, H. G. P., & Barbosa da Silveira, A. (2000). Smear Layer Influence on the Apical Seal of Four Different Obturation Techniques. *Journal of Endodontics*, 26(6), 351-354. doi: 10.1097/00004770-200006000-00010
- Haïkel, Y., Wittenmeyer, W., Bateman, G., Bentaleb, A., & Allemann, C. (1999). A new method for the quantitative analysis of endodontic microleakage. *Journal of Endodontics*, 25(3), 172-177. doi: 10.1016/s0099-2399(99)80136-8
- Jacquot, B. M., Panighi, M. M., Steinmetz, P., & G'Sell, C. (1996). Evaluation of temporary restorations' microleakage by means of electrochemical impedance measurements. *Journal of Endodontics*, 22(11), 586-589. doi: 10.1016/s0099-2399(96)80026-4
- Jhamb, S., Nikhil, V., & Singh, V. (2009). An in vitro study to determine the sealing ability of sealers with and without smear layer removal. *Journal of Conservative Dentistry*, 12(4), 150-153.
- Nagas, E., Uyanik, M. O., Sahin, C., Durmaz, V., & Cehreli, Z. C. (2008). Effects of Different Light-curing Units and Obturation Techniques on the Seal of the Resilon/Epiphany System. *Journal of Endodontics*, 34(10), 1230-1232. doi: 10.1016/j.joen.2008.07.011
- Oruçoğlu, H., Sengun, A., & Yilmaz, N. (2005). Apical Leakage of Resin Based Root Canal Sealers with a New Computerized Fluid Filtration Meter. *Journal of Endodontics*, 31(12), 886-890. doi: 10.1097/01.don.0000164134.79052.b3
- Pommel, L., & Camps, J. (2001). Effects of Pressure and Measurement Time on the Fluid Filtration Method in Endodontics. *Journal of Endodontics*, 27(4), 256-258. doi: 10.1097/00004770-200104000-00003
- Santos, J., Tjäderhane, L., Ferraz, C., Zaia, A., Alves, M., De Goes, M., & Carrilho, M. (2010). Long-term sealing ability of resin-based root canal fillings. *International Endodontic Journal*, 43(6), 455-460. doi: 10.1111/j.1365-2591.2010.01687.x
- Shahravan, A., Haghdoost, A.-A., Adl, A., Rahimi, H., & Shadifar, F. (2007). Effect of Smear Layer on Sealing Ability of Canal Obturation: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Endodontics*, 33(2), 96-105. doi: 10.1016/j.joen.2006.10.007
- Siqueira Jr, J. F., Rôças, I. N., Abad, E. C., Castro, A. J. R., Gahyva, S. M., & Favieri, A. (2001). Ability of Three Root-End Filling Materials to Prevent Bacterial Leakage. *Journal of Endodontics*, 27(11), 673-675. doi: 10.1097/00004770-200111000-00005

- Souza, E. M., Wu, M.-K., Shemesh, H., Bonetti-Filho, I., & Wesselink, P. R. (2008). Comparability of results from two leakage models. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 106(2), 309-313. doi: 10.1016/j.tripleo.2008.02.025
- Starkey, D. L., Anderson, R. W., & Pashley, D. H. (1993). An evaluation of the effect of methylene blue dye pH on apical leakage. *Journal of Endodontics*, 19(9), 435-439. doi: 10.1016/s0099-2399(06)80529-7
- Verissimo, D. M., & Sampaio do Vale, M. (2006). Methodologies for assessment of apical and coronal leakage of endodontic filling materials: a critical review. *Journal of Oral Science*, 48(3), 93-98.
- Vujašković, M., & Teodorović, N. (2010). Analysis of sealing ability of root canal sealers using scanning electronic microscopy technique. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*, 138(11-12), 694-698.
- Wu, M. K., De Gee, A. J., & Wesselink, P. R. (1994). Fluid transport and dye penetration along root canal fillings. *International Endodontic Journal*, 27(5), 233-238. doi: 10.1111/j.1365-2591.1994.tb00261.x
- Wu, M. K., Gee, A. J. D., Wesselink, P. R., & Moorer, W. R. (1993). Fluid transport and bacterial penetration along root canal fillings. *International Endodontic Journal*, 26(4), 203-208. doi: 10.1111/j.1365-2591.1993.tb00560.x
- Wu, M. K., & Wesselink, P. R. (1993). Endodontic leakage studies reconsidered. Part I. Methodology, application and relevance. *International Endodontic Journal*, 26(1), 37-43. doi: 10.1111/j.1365-2591.1993.tb00540.x
- Xu, Q., Fan, M.-w., Fan, B., Cheung, G. S. P., & Hu, H.-l. (2005). A new quantitative method using glucose for analysis of endodontic leakage. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 99(1), 107-111. doi: 10.1016/j.tripleo.2004.06.006
- Yildirim, T., Oruçoğlu, H., & Çobankara, F. K. (2008). Long-term Evaluation of the Influence of Smear Layer on the Apical Sealing Ability of MTA. *Journal of Endodontics*, 34(12), 1537-1540. doi: 10.1016/j.joen.2008.08.022